

## مروری بر سلول های بنیادی، فاکتورهای رشدی و داربستهای شایع مورد استفاده در درمان های رژنراتیو

دکتر شیما نریمانی، استادیار بخش درمان ریشه دانشکده دندانپزشکی اردبیل

دکتر سحر موسوی، استادیار بخش پروتز دانشکده دندانپزشکی اردبیل

دکتر سمیه حکمت فر، استادیار بخش کودکان دانشکده دندانپزشکی اردبیل

### مقدمه

درمانهای رژنراتیو اندودنتیک، زمینه جدیدی در علوم دندانپزشکی است و شامل تداخل میان سه فاکتور سلول های بنیادی، فاکتورهای رشدی و داربستها (مواد بیواوژیک) است. تداخل در تعامل این سه فاکتور منجر به فعالیت رژنراتیو بافت می شود (۱). این شاخه جدید که مهندسی بافت نام گرفته می تواند موجب تغییر روشهای درمانی کلینیسینها شود که زمینه جدید تحقیقاتی در روشهای درمانی ایجاد نموده است. درمانهای رژنراتیو اندو، قابلیت رژنراسیون پالپ، عاج و مینا را با استفاده از سلول های بنیادی و داربستها نشان داده است (۲و۳).

در این مقاله، مروری بر سلولهای بنیادی، فاکتورهای رشدی و داربستهای مورد استفاده در درمانهای ریواسکولاریزیشن پالپ خواهیم داشت.

### مواد و روشها

در مطالعه حاضر، مقالات در ارتباط با درمان های رژنراتیو که از سال ۲۰۰۲ تا کنون چاپ شده اند با استفاده از موتور جستجوگر گوگل، جمع آوری و بررسی شده اند.

### یافته ها

کاربرد اصول مهندسی بافت در پروسه های رژنراتیو اندو نیاز به تحقیقات و بررسی ارتباط میان سه فاکتور سلول های بنیادی، فاکتورهای رشدی و داربستها دارد که سبب بازسازی کمپلکس پالپ و عاج می شوند (۴و۵).

### سلولهای بنیادی

سلولهای بنیادی، جمعیت های سلولی تمایز نیافته با پتانسیل تمایز و تجدیدپذیری اند. این سلولها شامل دو گروه pluripotent و multipotent هستند. سلولهای pluripotent قابلیت تمایز به سلول های مشتق از هر سه لایه جنینی را دارند و نمونه شان سلول های بنیادی embryonic (جنینی) است که به دلیل ملاحظات قانونی استفاده از آنها در تحقیقات محدودیت دارد.

سلول های بنیادی مزانشیمال بزرگسالان، ظرفیت محدودی در تمایز دارند و فقط به سلول های با منشا مزانشیمال تبدیل میشوند و بنابراین در رده multipotent قرار می گیرند (۶).

بافت های مزانشیمی استخوان، پالپ دندان و لیگامان پریدنتال، جمعیت هایی از سلول های بنیادی بزرگسالان دارند (۶). این سلولها به نام سلولهای بنیادی مزانشیمال (MSCs) نامیده می شوند و بیشتر سلولهای بنیادی در دهان و صورت از این دسته اند (۷). از این دسته سلولهای بنیادی، سلولهای بنیادی آپیکال پاپیلا (SCAP)، سلولهای پروژنیاتور پری آپیکال التهابی (iPAPCs)، سلولهای بنیادی فولیکول دندان (DFSCs)، سلولهای بنیادی دنتال پاپیلا (DPSCs)، سلولهای بنیادی لیگامان پریدنتال (PDLSCs)، سلولهای بنیادی مغز استخوان (BMSCs)، سلولهای پروژنیاتور جوانه دندان (TGPCs)، سلولهای بنیادی غدد بزاقی (SGSCs)، سلولهای بنیادی دندانهای شیری خارج شده (SHED)، سلولهای بنیادی اپیتلیوم دهان (OESCs)، سلولهای بنیادی مشتق از لثه (GMSCs) و سلولهای بنیادی پریوست (PSCs) هستند (۷و۸). شکل ۱

سلولهای بنیادی دخیل در درمانهای رژنراتیو اندو شامل iPAPCs, BMSCs, PDLSCs, DPSCs و سلولهای بنیادی دنتال پاپیلا در صورت وجود پالپ زنده در ناحیه پری آپیکال هستند.

آپیکال پاپیلا منبع غنی سلولهای تمایز نیافته است که قابلیت بالای تمایز به سلولهای ادونتوژنیک را دارد (۹و۱۰). این سلولها در اثر تداخلات مزانشیمال- اپی تلپال غشای هرتویگ، سبب تشکیل ریشه می شوند (۱۱) و سپس در مجاورت نزدیک آپیکال پاپیلا در نزدیکی آپکس دندان باقی می مانند و منبع غنی از سلول های بنیادی در دسترس برای درمان های رژنراتیو اندو فراهم میکنند. در دندانهای با پریدونتیت آپیکال، سلولهای پری آپیکال التهابی منبع مهم دیگری از سلولهای بنیادی هستند (۸و۱۲).

مطالعه ای در سال ۲۰۱۱ برای بررسی حضور سلولهای بنیادی مزانشیمال به دنبال خونریزی عمدی ایجاد شده در درمانهای رژنراتیو انجام شد (۱۳). سطح بیان نشانگرهای سلول های بنیادی در فضای کانال ریشه بدنبال خونریزی ایجاد شده بصورت عمدی، ۷۰۰ برابر شده بود. جمعیتها سلولهای بنیادی فعال شده بدنبال خونریزی عمدی در درمانهای رژنراتیو، سلولهای مختلطی از بافتهای پری رادیکولار مجاور فورامن آپیکال هستند که بدنبال خونریزی ایجاد شده وارد کانال ریشه شده بودند.

در شرایط بالینی، غلظت کم اکسیژن، PH پایین، غلظت بالای اندوتوکسینها و مدیاتورهای التهابی وجود دارد (۱۴و۱۵) و نیز غلظت بالای نشانگر سلولی CD14 در این نمونه های بالینی نشان از حضور اگزودای التهابی مزمن در ناحیه آپیکال این دندانها بود.

سوال مطرح شده این است که چگونه در شرایط التهابی پریدونتیت آپیکال که مجموعه ای از میکروفلور، عوامل التهابی و سلولهای ایمنی و فشار پایین اکسیژن وجود دارند سلولهای بنیادی بقا می یابند؟ دلیل بیولوژیک بقای سازگارپذیر این سلولها در شرایط دشوار می تواند عروق فراوان فولیکول دندان دربرگیرنده پاپیلا دندان که عروق باشد که بستر عروقی مناسبی برای تغذیه سلولهای بنیادی آپیکال پاپیلا فراهم میکند (۱۶).

شرایط هیپوکسیک و اندوتوکسین باکتریها، پتانسیل آنژیوژنیک و بقا و پرولیفراسیون سلول های بنیادی دندان را بهبود می بخشد (۱۷و۱۸). این نشانگر توانایی سلول های بنیادی برای بقا و حفظ قابلیت تمایزشان در شرایط نامساعدی چون پریدونتیت آپیکال و آبسه آپیکال است.

سلولهای بنیادی تحت تاثیر گرادیان عوامل کموتاکتیک آزاد شده از سلولهای ایمنی عاج آسیب دیده به محل زخم و تخریب بافتی می رسند (۱۹). عاج تولید شده توسط این سلولها از سایر انواع عاج متمایز بوده و استئودنتین نام دارد که بی نظم، فاقد توبول و دارای انکلوژیون سلولی است. مواد بیواکتیوی مانند MTA و بیودنتین قابلیت عاج سازی سلولهای بنیادی را افزایش می دهند (۲۰).

پروتئین فیلامانی به نام نستین بطور اختصاصی در ادونتوبلاستها و سلولهای شبه ادونتوبلاست در فاز ترشحی فعال دیده میشود. بیان نستین همراه با سایر مارکرها در شناسایی ادونتوبلاستها و سلولهای شبه ادونتوبلاست ، اهمیت دارد (۲۱).

سلولهای بنیادی مزانشیمیالی که قابلیت تمایز به سلولهای شبه ادونتوبلاست دارند شامل DPSCs, SHEDs, SCAPs, iPAPCs, DFPCs, BMMSCs هستند (۲۳و۲۲). سلولهای بنیادی مزانشیمال قابلیت ورود به فضای کانال ریشه در دندانهای بالغ و نابالغ را دارند ولی قابلیت تمایز و رشد این سلولها با افزایش سن کم میشود (۲۳).

## فاکتورهای رشدی

امروزه مشخص شده که عاج، منبع غنی از فاکتورهای رشدی و سیتوکائینها میباشد (۲۴). این عوامل حین دنتینوژنز اولیه از ادونتوبلاستها ترشح میشوند و پس از اتمام مینرالیزاسیون در داخل ادونتوبلاستها ذخیره می شوند. در صورت دمینرالیزه شدن ماتریس عاجی حین پوسیدگی توسط اسید باکتریها، آماده سازی شیمیایی توسط EDTA ، قرار دادن  $Ca(OH)_2$  یا استفاده از اسید اچ برای ترمیمهای باند شونده به عاج یا در استفاده از مود بیواکتیو مانند MTA و بیودنتین آزاد می شوند (۲۵).

IGF 1,2 (فاکتورهای رشدی شبه انسولین)، TGF1,2,3, BMP2,4,6 در تمایز ادونتوبلاستها نقش دارند (۲۶و۲۷و۲۸).

استفاده از EDTA در آماده سازی فضای کانال ریشه، سبب انحلال فاز معدنیو آزادسازی فاکتورهای رشدی و تحریک تمایز سلولهای بنیادی و پروژنیوتورها می شود (۲۹). اچ کردن با مواد اسید اچ برای آماده سازی عاج در ترمیمهای باندشونده (۳۰) و استفاده طولانی از کلسیم هیدروکسید در زیر مواد ترمیمی در حفره های ترمیمی عمیق یا بعنوان dressing داخل کانال ریشه قادر به آزادسازی عوامل بیواکتیو عاج همچون فاکتورهای رشدی اند (۳۱). در استفاده از MTA و بیودنتین نیز کلسیم هیدروکسید بعنوان محصول جتنبی ایجاد شده نقش ماده بیواکتیو را در آزادسازی فاکتورهای رشدی ایفا میکند (۲۵).

## داربست ها

داربستها جزء مهم درمانهای رژنراتیو هستند که (۱) سبب جهت دهی مناسبی برای جایگزینی سلولها میشوند (۲) تمایز، پرولیفراسیون و متابولیسم را با نقش در توزیع مواد مغذی و دفع ضایعات حاصل از فعالیت سلولها تنظیم میکنند (۳۲و۳۰).

داربستها به دو دسته داربستهای طبیعی و سنتتیک تقسیم می شوند. از داربستهای طبیعی می توان به کلاژن، گلیکوزآمینوگلیکان، اسید هیالورونیک ، ماتریس عاجی طبیعی یا دمنیرالیزه و فیبرین اشاره کرد(۳۳و۳۴).

از داربستهای سنتتیک می توان پلی ال لاکتیک اسید، پلی گلیکولیک اسد پلی لاکتیک -کوگلیکولیک اسید ، هیدروکسی آپاتیت/تری کلسیم فسفات اشاره کرد(۳۵).

در بیشتر مطالعات چاپ شده در مورد درمانهای رژنراتیو اندو، بدنبال خونریزی عمدی ایجاد شده، لخته خون حاصل به عنوان داربست عمل میکند (۱۶). روش دیگر ایجاد داربست، استفاده از پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) و فیبرین غنی از پلاکت (PRF) است(۳۶).

PRP غنی از فاکتورهای رشدی است که در طول زمان تجزیه شده و یک ماتریکس سه بعدی فیبرینی ایجاد میکند. PRF آلترناتیو PRP است که ساختار سه بعدی هدایت کننده سلولهای بنیادی و سرشار از مولکولهای بیواکتیو است. در این دو داربست ، میزان فاکتورهای رشدی، قابل کنترل نیست و به دلیل نیاز به خون وریدی در کودکان روش دشواری است(۳۷).

هیدروژل ها گروه دیگری از داربستها هستند که پلیمرهای آبدوست سه بعدی اند(۳۸). این داربستها به راحتی قابل تزریق به فضای کانال ریشه هستند، براحتی با جذب مایعات موجود در بافت ژله ای میشوند و نقش ماتریکس خارج سلولی را ایفا میکنند (۳۹) و سبب نقل و انتقال عوامل آنژیوژنیک و محل استقرار مناسب سلولهای بنیادی هستند. هیدروژلها بدلیل مزایای ذکرشده، پتاسیل بالا در درمانهای رژنراتیو اندو دارند.

## نتیجه گیری

درمانهای رژنراتیو اندو، سریعا در حال پیشرفت هستند و با پیشرفتهای حاصل در زمینه استفاده از سلولهای بنیادی، فاکتورهای رشدی و داربست های مناسب این شاخه جدید از علم دندانپزشکی در حال جایگزینی روشهای سنتی استفاده شده در این علم است.



## References

1. d'Aquino R, De Rosa A, Laino G, et al: Human dental pulp stem cells: from biology to clinical applications, *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 312B:408, 2009.
2. Galler KM, D'Souza RN, Federlin M, et al: Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics, *J Endod* 37:1536, 2011.
3. Iohara K, Imabayashi K, Ishizaka R, et al: Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105+ stem cells with stromal cell-derived factor-1, *Tissue Eng Part A* 17:1911, 2011.
4. Hargreaves KM, Giesler T, Henry M, Wang Y: Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? *J Endod* 34:S51, 2008.
5. Nakashima M, Akamine A: The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics, *J Endod* 31:711, 2005.
6. Caplan AI: Mesenchymal stem cells, *J Orthop Res* 9:641,1991.
7. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, et al: Stem cells in dentistry—part I: stem cell sources, *J Prosthodont Res* 56:151, 2012.
8. Liao J, Al Shahrani M, Al-Habib M, et al: Cells isolated from inflamed periapical tissue express mesenchymal stem cell markers and are highly osteogenic, *J Endod* 37:1217, 2011.
9. Huang GT, Sonoyama W, Liu Y, et al: The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering, *J Endod* 34:645, 2008.
10. Ruparel NB, de Almeida JF, Henry MA, Diogenes A: Characterization of a stem cell of apical papilla cell line: effect of passage on cellular phenotype, *J Endod* 39:357, 2013.
11. Xu L, Tang L, Jin F, et al: The apical region of developing tooth root constitutes a complex and maintains the ability to generate root and periodontium-like tissues, *J Periodontal Res*44:275, 2009.
12. Marrelli M, Paduano F, Tatullo M: Cells isolated from human periapical cysts express mesenchymal stem cell-like properties, *Int J Biol Sci* 9:1070, 2013.
13. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A: Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure, *J Endod* 37:133, 2011.
14. Fang Y, Hu J: Toll-like receptor and its roles in myocardial ischemic/reperfusion injury, *Med Sci Monit* 17:RA100, 2011.
15. Jiang HW, Zhang W, Ren BP, et al: Expression of toll like receptor 4 in normal human odontoblasts and dental pulp tissue, *J Endod* 32:747, 2006.
16. Diogenes A, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM: An update on clinical regenerative endodontics, *Endod Topics* 28:2, 2013.

17. Sakdee JB, White RR, Pagonis TC, Hauschka PV: Hypoxia-amplified proliferation of human dental pulp cells, *J Endod* 35:818, 2009.
18. Abe S, Imaizumi M, Mikami Y, et al: Oral bacterial extracts facilitate early osteogenic/dentinogenic differentiation in human dental pulp-derived cells, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 109:149, 2010.
19. Tecles O, Laurent P, Aubut V, About I: Human tooth culture: a study model for reparative dentinogenesis and direct pulp capping materials biocompatibility, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 85:180, 2008.
20. Poole JA, Romberger DJ: Immunological and inflammatory responses to organic dust in agriculture, *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 12:126, 2012.
21. About I, Laurent-Maquin D, Lendahl U, Mitsiadis TA: Nestin expression in embryonic and adult human teeth under normal and pathological conditions, *Am J Pathol* 157:287, 2000.
22. Koubi G, Colon P, Franquin JC, et al: Clinical evaluation of the performance and safety of a new dentine substitute, biodentine, in the restoration of posterior teeth: a prospective study, *Clin Oral Investig* 17:243, 2013.
23. Nakashima M, Iohara K: Regeneration of dental pulp by stem cells, *Adv Dent Res* 23:313, 2011.
24. Smith AJ, Lesot H: Induction and regulation of crown dentinogenesis: embryonic events as a template for dental tissue repair? *Crit Rev Oral Biol Med* 12:425, 2001.
25. Tomson PL, Grover LM, Lumley PJ, et al: Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate, *J Dent* 35:636, 2007.
26. Begue-Kirn C, Smith AJ, Lorient M, et al: Comparative analysis of TGF beta s, BMPs, IGF1, msxs, fibronectin, osteonectin and bone sialoprotein gene expression during normal and in vitro-induced odontoblast differentiation, *Int J Dev Biol* 38:405, 1994.
27. Thesleff I, Vaahtokari A: The role of growth factors in determination and differentiation of the odontoblastic cell lineage, *Proc Finn Dent Soc* 88 (suppl 1):357, 1992.
28. Vainio S, Karavanova I, Jowett A, Thesleff I: Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development, *Cell* 75:45, 1993.
29. Smith AJ, Tobias RS, Cassidy N, et al: Odontoblast stimulation in ferrets by dentine matrix components, *Arch Oral Biol* 39:13, 1994.
30. Ferracane JL, Cooper PR, Smith AJ: Can interaction of materials with the dentin-pulp complex contribute to dentin regeneration? *Odontology* 98:2, 2010.
31. Graham L, Cooper PR, Cassidy N, et al: The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components, *Biomaterials* 27:2865, 2006.
32. Ravindran S, Huang CC, George A: Extracellular matrix of dental pulp stem cells: applications in pulp tissue engineering using somatic MSCs, *Front Physiol* 4:395, 2014.
33. Galler KM, D'Souza RN, Hartgerink JD, Schmalz G: Scaffolds for dental pulp tissue engineering, *Adv Dent Res* 23:333, 2011.
34. Tziafas D, Kolokuris I: Inductive influences of demineralized dentin and bone matrix on pulp cells: an approach of secondary dentinogenesis, *J Dent Res* 69:75, 1990.
35. Fanton d'Andon M, Quellard N, Fernandez B, et al: Leptospira interrogans induces fibrosis in the mouse kidney through Inos-dependent, TLR- and NLR-independent signaling pathways, *PLoS Negl Trop Dis* 8:e2664, 2014.

36. Ogino Y, Ayukawa Y, Kukita T, Koyano K: The contribution of platelet-derived growth factor, transforming growth factor-beta1, and insulin-like growth factor-I in platelet-rich plasma to the proliferation of osteoblast-like cells, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 101:724, 2006.
37. Kang XQ, Zang WJ, Bao LJ, et al: Differentiating characterization of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in vitro, *Cell Biol Int* 30:569, 2006.
38. Fichman G, Gazit E: Self-assembly of short peptides to form hydrogels: design of building blocks, physical properties and technological applications, *Acta Biomater* 10:1671, 2014.
39. Xu X, Jha AK, Harrington DA, et al: Hyaluronic acid-based hydrogels: from a natural polysaccharide to complex networks, *Soft Matter* 8:3280, 2012.